

PERBANYAKAN TANAMAN KRISAN (*Chrysanthemum morifolium*) MELALUI KULTUR JARINGAN

[Vegetative Propagation of Chrysant by Tissue Culture Technique]

Ita Dwimahyani^{El} dan S Gandanegara

Pusat Penelitian Teknologi Isotop dan Radiasi-BATAN
PO Box 7010 JKSKL, Jakarta 12070

ABSTRACT

Vegetatively propagated *Chrysanthemum morifolium* has been carried out by tissue culture. Explants derived from shoot-tip of three chrysant genotypes were used for the experiment. Shoot-tips taken from terminal branch and sterilized with 0.05% HgCb for 30 minutes and rinsed with distilled water three times. Shoot-tips were cultured on MS regeneration medium containing 1 mg/l BAP and 0.02 mg/l NAA. Shoot regeneration occurred 20 days after cultured. A number of tiny shoots were then transferred to fresh regeneration medium for 3 weeks and regenerated shoots were calculated. Results showed that plant genotypes had different response into plant regeneration. Genotype Ku-Ch had better response compared to other two genotypes which shown from number of plantlets produced by this genotype on the third sub-culture.

Kata kunci/key words: Perbanyak vegetatif/ vegetatively propagated, kultur jaringan/ tissue culture, krisan/ chrysant, *Chrysanthemum morifolium*.

PENDAHULUAN

Tanaman krisan telah dibudidayakan lebih dari 1400 dan 1200 tahun yang lalu berturut-turut di China dan Jepang (Cockshull, 1995). Sebagai bunga potong, tanaman krisan sangat populer di Indonesia terutama digunakan saat upacara seperti perkawinan, kematian, peresmian gedung dsb. Perbanyak krisan biasanya dilakukan secara vegetatif yaitu dengan memotong bagian-bagian cabang dari batang dan kemudian diberi zat pengatur tumbuh sebelum ditanam pada tempat pembibitan. Pembiakan tanaman krisan melalui kultur jaringan akan dapat menghasilkan jumlah tanaman dalam jumlah besar pada waktu yang singkat. Suatu keuntungan yang diperoleh dalam aplikasi teknologi kultur jaringan dalam mem-perbanyak tanaman krisan adalah upaya untuk memodifikasi genetik tanaman tersebut. Rekayasa genetik tanaman krisan dapat dilakukan dengan menggabungkan teknologi nuklir dengan teknik kultur jaringan. Keberhasilan metode ini sangat tergantung dengan sistem seleksi yang digunakan pada tahap awal dan kemampuan menghasilkan tanaman secara *in vitro*. Perbanyak tanaman bunga secara kultur jaringan sudah banyak

yang sukses seperti tanaman anggrek, garbera dan lili (Pack *et al.*, 1993). Metode perbanyak tanaman secara vegetatif melalui kultur jaringan untuk beberapa spesies tanaman bunga seperti tanaman angrek dan krisan lebih efisien bila dibandingkan melalui biji. Oleh karena itu memilih tanaman yang mempunyai nilai komersial tinggi patut dipertimbangkan dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan sehingga dapat memberi keuntungan.

Kecepatan pembungaan tanaman krisan sangat tergantung kepada lamanya pencahayaan yaitu periode terang dan gelap. Pembungaan akan terjadi lebih awal apabila suhu pada malam hari berkisar 10°C-20°C dan periode gelap/terang yaitu 12/12 jam (Kofranek, 1980; Cockshull, 1995). Pembungaan yang lebih awal tidak menguntungkan dari segi bisnis, karena pertumbuhan vegetatif tanaman belum sempurna dan kualitas bunga yang dihasilkan kurang baik.

Modifikasi genetik untuk memperoleh tanaman yang insensitif terhadap pencahayaan dapat dilakukan dengan teknik nuklir. Keberhasilan memperoleh galur mutan tergantung sekali dengan kemapanaan pengembangan teknik kultur jaringan

dalam perbanyak tanaman (Micke *et al.*, 1987; Schum and Preil, 1998; Cassells, 1998).

Selama ini bibit tanaman krisan sangat tergantung dari produsen bibit luar negeri. Ketergantungan ini secara berangsur-angsur harus dihilangkan, oleh karena berbagai ekosistem dataran tinggi di Indonesia sangat cocok untuk pembibitan berbagai jenis tanaman bunga. Pemuliaan tanaman krisan dapat dilakukan secara konvensional maupun menggunakan teknologi nuklir seperti disebutkan di atas. Penguasaan pengetahuan yang memadai mengenai mutasi dan genetika tanaman sangat penting dalam menghasilkan bibit-bibit unggul.

Earl and Langhans (1974) berhasil memperbanyak tanaman krisan secara kultur *in vitro*. Hampir 90 juta tanaman dapat dihasilkan dalam waktu satu tahun dengan teknik kultur *in vitro*. Kombinasi penggunaan NAA dan kinetin sangat bagus menginduksi pembentukan pucuk dari eksplan yang digunakan.

Tujuan penelitian adalah untuk mempelajari pembentukan pucuk dan plantlet tanaman krisan secara kultur *in vitro* sebagai langkah awal dalam memperbaiki genetika tanaman krisan.

BAHAN DAN METODE

Persiapan material tanaman krisan.

Tiga genotipe tanaman krisan yang digunakan berasal dari beberapa daerah yaitu Cihideung dan Cipanas. Krisan warna putih berasal dari daerah Cipanas diberi simbol Pt-Cp, sedangkan krisan warna merah dan kuning berasal dari daerah Cihideung diberi simbol berturut-turut yaitu Me-Ch dan Ku-Ch. Ketiga genotipe diadaptasi selama dua minggu di laboratorium sebelum pengambilan shoot-tip sebagai eksplan. Setelah adaptasi selama dua minggu banyak tunas baru yang tumbuh untuk dapat digunakan sebagai sumber eksplan.

Kultur eksplan tanaman krisan.

Eksplan yang sudah disterilkan dengan HgCl₂ (0,05%) kemudian ditumbuhkan pada media

MS (Murashige and Skoog, 1962). Media tersebut terdiri dari garam-garam makro dan mikro, dengan tambahan asam nikotinat (0,5 mg/l), piridoksin HCl (0,5 mg/l), tiamin HCl (0,5 mg/l), myo inositol (100 mg/l), sukrosa (30 gr/l), kinetin 1 mg/l, NAA (0,02 mg/l). Derajat kemasaman media diatur pada pH 5,8 sebelum diautoklaf. Eksplan dikultur dalam cawan petri yang berisi media regenerasi untuk selama 30 hari.

Pemindahan pucuk-pucuk ke media sub-kultur.

Pucuk-pucuk yang sudah terbentuk pada media regenerasi kemudian dipotong menjadi bagian kecil dan setelah itu disubkultur pada media regenerasi baru. Pengamatan dilakukan setelah pucuk tumbuh menjadi dewasa pada umur sekitar 4-6 minggu.

Pengamatan pembentukan pucuk dan plantlet.

Pengamatan terhadap pembentukan pucuk dilakukan pada subkultur II dengan komposisi media yang sama. Setelah pertumbuhan pucuk semakin banyak dan berkembang (2-3 minggu setelah subkultur) pucuk dipindahkan lagi ke media baru dengan komposisi tetap sama. Pada subkultur II ini sudah banyak terbentuk plantlet yang belum berakar. Pengamatan pembentukan plantlet dimulai pada saat sub kultur II kemudian dilanjutkan ke subkultur III dan IV. Untuk merangsang pembentukan akar, plantlet dipindahkan ke media bebas hormon. Sedangkan pucuk yang masih kecil dipindahkan lagi ke media regenerasi baru.

Induksi pembentukan akar pada media MS bebas hormon

Plantlet yang belum berakar diinduksi pembentukan akarnya pada media MS bebas hormon yang terdiri dari Makro dan mikro nutrisi Murashige and Skoog (1962) kemudian ditambahkan asam nikotinat (0,5 mg/l), piridoksin HCl (0,5 mg/l), dan tiamin HCl (0,5 mg/l), myo-inositol (100 mg/l), sukrosa (30 gr/l), dan diatur pH 5,8 sebelum diautoklaf.

HASIL

Ketiga jenis genotipe krisan yang digunakan dalam penelitian ini memberikan respon yang cukup baik terhadap regenerasi tanaman secara *in vitro*. Induksi pucuk dari shoot-tip membutuhkan waktu yang agak lama yaitu sekitar 20-30 hari dengan mengalami beberapa fase pertumbuhan.

Perkembangan pembentukan pucuk dari eksplan dapat diikuti secara bertahap. Tahap pertama dari perkembangan tersebut yaitu terjadinya pembengkakan sumber eksplan, yang kemudian berkembang seperti kalus yang mengandung khlorofil. Perkembangan selanjutnya terjadi adalah diferensiasi yang lebih nyata dengan munculnya gumpalan pucuk kecil seperti yang terlihat pada Gambar 1. Gumpalan pucuk ini dipisahkan menjadi bagian-bagian kecil dan kemudian dipindahkan ke botol yang agak besar agar pertumbuhan pucuk-pucuk menjadi plantlet tidak terganggu (Gambar 2).

Pengamatan rata-rata pembentukan pucuk terhadap jumlah eksplan pada umur 4-6 minggu menunjukkan bahwa jumlah pembentukan pucuk yang terendah diperoleh pada genotipe Pt-Cp dan tertinggi diperoleh pada genotipe Me-Ch yaitu 3,60 (Tabel 1). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tidak semua eksplan memberikan respon yang sama terhadap pembentukan pucuk tanaman krisan. Beberapa eksplan terlihat menjadi kecoklatan dan mengeluarkan eksudat kemudian mati selama dikultur. Eksplan yang mengeluarkan eksudat ini tidak mempunyai daya tumbuh lagi walaupun dipindahkan ke media baru.

Pucuk-pucuk kecil yang terbentuk pada media regenerasi pertama terus tumbuh dan berkembang setelah disubkultur. Sebagian pucuk berkembang menjadi plantlet tetapi tidak mempunyai akar, sedangkan sebagian lagi terlihat munculnya pucuk-pucuk baru. Pucuk-pucuk baru yang terbentuk disubkultur lagi pada media regenerasi, sedangkan plantlet yang sudah terbentuk dipindahkan ke media MS bebas hormon untuk pembentukan akar.

Jumlah plantlet yang dihasilkan terus

meningkat pada subkultur II dan III. Pengamatan jumlah tanaman yang dihasilkan pada sub-kultur III terlihat bahwa genotipe Ku-Ch paling tinggi menghasilkan tanaman dibandingkan dengan genotipe lainnya (Tabel 2). Pada saat ini, plantlet masih belum mempunyai akar. Induksi akar dapat dilakukan pada media MS bebas hormon. Plantlet yang berasal dari media regenerasi dan sudah agak besar, kemudian dipindah ke media MS bebas hormon. Pembentukan akar pertama kali terjadi pada hari ke 5 setelah plantlet dipindahkan. Akar-akar kecil muncul dari samping batang. Kemudian secara berangsur-angsur akar tanaman ini memanjang sehingga terbentuk akar lateral. Apabila jumlah akar yang terbentuk sudah cukup memadai ditandai dengan tumbuhnya akar-akar samping (Gambar 3), maka plantlet sudah bisa diaklimatisasi di rumah kaca, di daerah Puncak Jawa Barat. Tanaman yang diaklimatisasi hampir seratus persen hidup dan berbunga.

PEMBAHASAN

Sumber eksplan yang digunakan dalam perbanyakan tanaman krisan sangat mempengaruhi kualitas tanaman yang dihasilkan selama kultur *in vitro*. Pada penelitian pendahuluan telah digunakan daun yang paling muda sebagai sumber eksplan untuk menghasilkan pucuk, tetapi respon pembentukan pucuk sangat rendah sekali (data tidak ditampilkan). Deberch and Read (1993) melaporkan bahwa tipe dan jenis eksplan sebagai material awal yang digunakan untuk kultur jaringan akan mempunyai respon yang berbeda satu dengan lainnya.

Di samping itu untuk mendapatkan respon yang baik terhadap perbanyakan tanaman selama kultur *in vitro*, maka para peneliti sering mengubah beberapa parameter seperti cahaya, suhu, dan hormon pertumbuhan agar diperoleh respon yang optimal terhadap kemampuan regenerasi tanaman. Razdan (1993) mengatakan bahwa fitohormon terutama auxin dan sitokinin sangat berperan dalam sel *totipotency*.

Penggunaan konsentrasi fitohormon untuk sel diferensiasi sangat tergantung dari jenis tanaman

yang digunakan sebagai sumber eksplan. Rasio sitokinin terhadap auxin pada media sangat mempengaruhi *xylogenesis* pada diferensiasi sel. Penelitian yang dilakukan ini telah menggunakan rasio sitokinin terhadap auxin sekitar 1:50 yaitu kinetin 1 mg/l dan NAA 0,02 mg/l. Respon dari rasio sitokinin terhadap auxin pada pembentukan pucuk krisan sangat tergantung dari genotipe yang digunakan (Tabel 1).

Sebagai bunga potong, perbanyak tanaman krisan secara kultur jaringan akan dapat menguntungkan dari segi komersial. Tiga kendala utama dalam memperluas perkebunan tanaman krisan adalah pertumbuhannya yang sebagian besar hanya cocok pada dataran tinggi dengan fluktuasi suhu siang dan malam cukup tinggi dan mempunyai fotoperiodisitas pendek yaitu tanaman ini akan segera berbunga apabila periode gelap dan terang sama (Kofranek, 1980). Hal ini akan meningkatkan biaya produksi apabila harus memberikan pencahayaan artificial dengan listrik. Kendala ke tiga yaitu gangguan faktor biotik yang sangat banyak di Indonesia seperti penyakit yang disebabkan oleh jamur dan bakteri.

Krisan sebagai tanaman bunga yang mudah diperbanyak melalui vegetatif, maka kendala seperti di atas dapat ditanggulangi melalui modifikasi genetik dengan metode pemuliaan yang modern seperti

rekayasa genetik atau dengan menggunakan teknologi nuklir.

Aplikasi teknologi kultur jaringan adalah merupakan langkah awal dalam usaha memperbaiki genetika tanaman krisan.

Kelembaban sangat mempengaruhi pertumbuhan krisan selama kultur *in vitro*. Menurut laporan Short *et al.* (1987) menyebutkan bahwa berkurangnya kelembaban dapat mengakibatkan terjadinya disikasi pada daun, dan berpengaruh juga pada membuka dan menutupnya stomata (Wardle *et al.*, 1983).

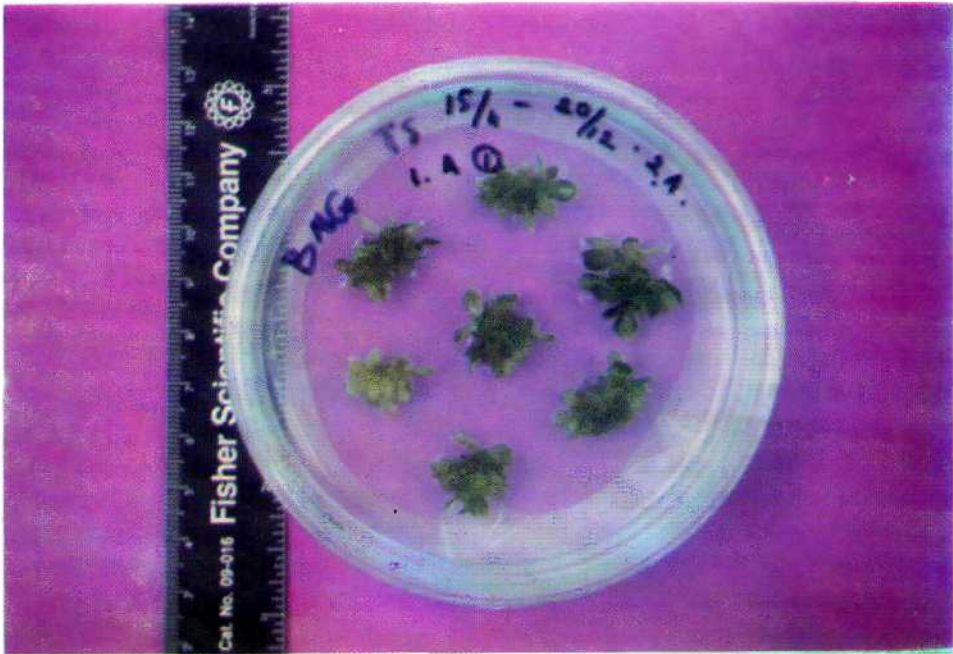
Permintaan pasar terhadap krisan akan selalu meningkat seiring dengan pertumbuhan ekonomi pada masa yang akan datang. Produksi bunga potong dengan kultur jaringan akan dapat menjamin mencukupi kebutuhan pasar yang akan datang. Selain itu, keseragaman klon-klon yang dihasilkan merupakan prasyarat utama dalam perdagangan bunga potong yang berkualitas seperti krisan ini. Kemapanan menghasilkan tanaman garbera dengan kultur jaringan di Eropa telah menjadi komoditi perdagangan yang menarik dari segi komersial. Diperkirakan sekitar 18 juta tanaman dapat dihasilkan secara kultur *in vitro*, sedangkan posisi kedua diduduki oleh sejenis paku-pakuan (fern) (Jones and Sluis, 1993).

Tabel 1. Rata-rata pembentukan pucuk tanaman dari beberapa genotip krisan pada media MS modifikasi.

Genotipe	Jumlah eksplan	Jumlah pucuk	Rata-rata pucuk/eksplan
Pt-Cp	5	11	2,22
Ku-Ch	13	44	3,28
Me-Ch	5	18	3,60

Tabel 2. Jumlah plantlet yang dihasilkan pada media MS bebas hormon

Genotipe	Jumlah plantlet		
	Subkultur II	Subkultur m	Subkultur IV
Pt-Cp	11	76	420
Ku-Ch	44	236	1205
Me-Ch	18	150	483



Gambar 1. Pembentukan pucuk tanaman krisan setelah diinduksi selama 20 hari



Gambar 2. Pembentukan plantlet tanaman krisan setelah 25 hari dimedia pembentukan pucuk



Gambar 3. Plantlet krisan yang sudah berakar yang dikultur pada media MS bebas hormon selama 3 minggu dan siap diaklimatisasi

KESIMPULAN

Hasil penelitian terhadap perbanyakan tanaman krisan se-cara *in vitro* dapat disimpulkan bahwa respon masing-masing genotipe tanaman sangat berbeda satu dengan lainnya dalam memproduksi plantlet. Genotipe yang mampu menghasilkan pucuk lebih tinggi akan menghasilkan plantlet yang lebih banyak seperti contoh genotipe Ku-Ch.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Yulidar yang telah membantu penelitian kultur jaringan dan saudara Saumin dan Agus yang telah memelihara tanaman di rumah kaca, Puncak Jawa Barat.

DAFTAR PUSTAKA

- Cassels AC, 1998.** In-vitro Induced Mutations for Disease Resistance. Dalam: *Somaclonal Variation and Induced Mutation in Crop Improvement*. Jain *et al.* (Eds.). Kluwer Academic. Him. 367-378.
- Cockshull KE, 1995.** *Chrysanthemum morifolium*. Dalam: *CRC Handbook of Flowering Vol. II*. Halevy SH (Ed). CRC. Boca Raton, Florida. Him. 238-257.
- Deberch PC and Read PE, 1993.** Micropropagation. Dalam: *Micro-propagation: Technology and Application*. Deberch PC and Zimmerman RH (Eds.). Kluwer Academic. Him. 1-13.
- Earle ED and Langhans RW, 1974.** Propagation of *Chrysanthemum* in vitro: Production, Growth and Flowering of Plantlets from Tissue Cultures. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **99**, 352-358.

- Jones JB and Sluis CJ, 1993.** Marketing of Micropropagated plants. Dalam: Micro-propagation: Technology and Application. Deberch PC and Zimmerman RH (Eds.). Kluwer Academic. Him 141-154.
- Kofranek AM, 1980.** Cut *Chrysanthemum*. Dalam: *Introduction to Floriculture.* Larson RA (Ed.). Academic. Him 5-43.
- Micke, Donni B and Maluszynski M, 1987.** Induce Mutation for Crop Improvement: A review. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 64, 259-277.
- Murashige T and Skoog F, 1962.** A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Culture. *Plant Physiology* 15, 473-497.
- Pack K-Y, Hwang J-K and Han B-H. 1993.** Perspective and Handicaps for Commercial Application of Micropropagation in Korea. Dalam: Advances in Developmental Biology and Biotechnology of Higher Plants. Soh W-Y *et al.* (Eds). Him 38-70.
- Preece JE and Sutter EG, 1993.** Aclimation of Micropropagated Plants to the Greenhouse and Field. Dalam: Micro-propagation: Technology and Application. Deberch PC and Zimmerman RH (Eds.). Kluwer Academic. Him 484.
- Razdan MK, 1993.** *An Introduction to Plant Tissue Culture,* Intercept, Hampshire, England. Him 398.
- Roest S, 1977.** Vegetative Propagation/«- Vitro and its Significance for Mutation Breeding. *Acta Horticulturae* 78, 349-359.
- Schum A And Preil W, 1998.** Induced Mutation in Ornamental Plants. Dalam: Dalam: Somaclonal Variation and Induced Mutation in Crop Improvement. Jain *et al.* (Eds.). Kluwer Academic. Him. 333-365.
- Short KC, Warburton J and Robert AV, 1987.** *In-vitro* Hardening of Cultured Cauliflower and Chrysanthemum Plantlets to Humidity. *Acta Hort. III*, 329-344.